

Nghiên cứu xây dựng mô hình docking và mô phỏng động lực học phân tử các dẫn chất chalcon có tác dụng ức chế enzyme monoamin oxidase B

Phạm Diễm Thu, Trần Thành Đạo
Lê Minh Trí, Thái Khắc Minh*, Nguyễn Quốc Thái
Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Summary

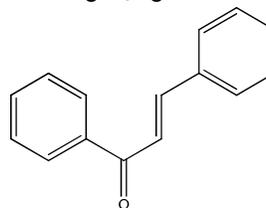
Monoamine oxidase B (MAO-B) catalyzes the decomposition of monoamines in food and is primarily responsible for neurotransmitter activities associated with Parkinson's and Alzheimer's diseases. In recent years, many selective inhibitors of MAO-B have been studied, especially chalcone derivatives, which are simple compounds belonging to the large structural group of flavonoids. This research aims to build docking models to predict the inhibitory ability of chalcone derivatives with monoamine oxidase B enzyme. Substances with good results from the docking model would be molecular dynamics simulated to investigate their ability to inhibit monoamine oxidase B enzyme. As the results, most of the compounds are well bound and able to inhibit monoamine oxidase B enzyme. Thereby, these results have confirmed the ability to inhibit monoamine oxidase B enzyme of most chalcone compounds.

Key word: Monoamine oxidase B, chalcone, docking, molecular dynamics simulation.

Đặt vấn đề

Monoamin oxidase (MAO) là họ enzym xúc tác quá trình oxy hóa của monoamin chứa đồng yếu tố flavin adenin denucleotid (FAD) trong cấu trúc. Ở người, có hai loại enzym chính là MAO-A và MAO-B chịu trách nhiệm cho sự trao đổi chất của các chất dẫn truyền thần kinh như dopamin, serotonin, adrenalin và noradrenalin. Cả hai enzym đều liên kết ở màng ty thể và xúc tác cho quá trình phân hủy các monoamin trong thức ăn cũng như việc chịu trách nhiệm chính cho các hoạt động dẫn truyền thần kinh^[1]. Mặc dù giống nhau 70% trình tự acid amin nhưng mỗi enzym lại chuyển hóa cho mỗi cơ chất khác nhau. Trong đó, MAO-B chuyển hóa cho cơ chất là phenylethylamin, N-methylhistamin và dopamin liên quan đến bệnh parkinson và alzheimer. Việc ức chế hoạt động enzyme MAO-B làm ngăn chặn phân hủy nên tăng cường hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh monoamin.

Trong những năm gần đây, rất nhiều chất ức chế chọn lọc trên MAO-B đã được nghiên cứu và nhiều thuốc được sử dụng trên thị trường như selegiline, rasagiline. Tuy vậy, các hợp chất chống oxy hóa tốt như chalcon vẫn chưa có nhiều nghiên cứu khả năng gắn kết tốt lên enzyme MAO-B ứng dụng trên lâm sàng.



Hình 1. Công thức cấu tạo chung của các chalcon nghiên cứu

Chalcon có cấu trúc hóa học chung là 1,3-diaryl-2-propen-1-on (hình 1), là một phân lớp họ flavonoid chuỗi mở, mang hai vòng aryl được kết nối thông qua một đệm ba carbon, liên kết propenon. Đoạn propenon chưa bão hòa α, β không chỉ chịu trách nhiệm về hoạt tính sinh học mà còn đóng vai trò quan trọng trong chuyển đổi cấu trúc chalcon thành các dẫn xuất khác nhau nhằm tăng cường hoạt tính. Hoạt tính sinh học của chalcon bao gồm

Chịu trách nhiệm: Thái Khắc Minh
Email: thaikhaclingh@ump.edu.vn
Ngày nhận: 24/9/2021
Ngày phản biện: 01/10/2021
Ngày duyệt bài: 24/12/2021

hoạt tính chống viêm, chống ung thư, chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống lao, kháng vi-rút, chống sốt rét, bảo vệ thần kinh... Chính vì thế, nghiên cứu này xây dựng mô hình docking phân tử và mô phỏng động lực học phân tử để dự đoán khả năng gắn kết và đánh giá tiềm năng ức chế của các dẫn chất chalcon với enzym monoamin oxidase B.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Cơ sở dữ liệu

Đối tượng thử nghiệm của đề tài gồm 90 hợp chất chalcon và dẫn xuất lấy từ các bài báo và loại nhiễu bằng phần mềm Z-score, cơ sở dữ liệu còn lại 80 chất dùng để xây dựng mô hình mô tả phân tử docking tại khoang gắn kết của enzym monoamin oxidase B (MAO-B).

Xây dựng mô hình redocking

Trước tiên, cấu trúc protein của enzym được tải từ ngân hàng dữ liệu Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>) và chuẩn bị ba phối tử cho quá trình redocking. Phối tử 1 là phối tử được tách ra từ cấu trúc ban đầu và giữ nguyên cấu dạng. Phối tử 2 là phối tử 1 được tối thiểu hóa năng lượng lần 1, chạy động lực học phân tử, sau đó tối thiểu hóa năng lượng lần 2 để vượt qua rào cản năng lượng. Phối tử 3 là phối tử tự xây dựng bằng cách vẽ lại bằng phần mềm ChemDraw, sau đó tối thiểu hóa năng lượng lần 1, chạy động lực học phân tử và cuối cùng là tối thiểu hóa năng lượng lần 2. Sau đó tiến hành redocking bằng công cụ FlexX tích hợp trong phần mềm LeadIT 2.1.8, sử dụng để docking cấu trúc của protein với lần lượt 3 phối tử. Quá trình redocking là bước quan trọng để chứng minh quy trình docking trong phương pháp nghiên cứu là đáng tin cậy. Kết quả redocking bao gồm điểm số docking và giá trị RMSD của từng cấu dạng phối tử. Khi RMSD càng nhỏ thì cấu dạng của ligand trong phức hợp càng gần với cấu dạng của ligand đồng kết tinh. Mô hình đáng tin cậy khi giá trị RMSD của ba trường hợp redocking không quá 2 Å [2].

Docking phân tử

Kết quả docking cho biết ái lực gắn kết của ligand và protein và tương tác giữa ligand và các acid amin xung quanh. Tiến hành docking nhờ phần mềm LeadIT 2.1.8. Xây dựng mô hình docking phân tử gồm các bước: Chuẩn bị cấu trúc protein (1); Chuẩn bị cấu trúc ligand (2);

Xây dựng mô hình khoang gắn kết (3) và tiến hành docking và xuất kết quả (4). Tuy nhiên, cần kết hợp đánh giá giá trị RMSD của quá trình redocking để giúp khẳng định thêm mô hình docking là đáng tin cậy.

Mô tả động lực học và đánh giá độ ổn định cũng như tính linh động của phức hợp

Từ kết quả quá trình docking, các chất có điểm số tốt nhất được tiến hành mô phỏng động lực học phân tử (MD) trong thời gian xác định là 20 ns (nano giây) cho mỗi phức hợp protein - phối tử bằng phần mềm GROMACS 2020.4, trường lực CHARMM27. Môi trường mô phỏng cho phức hợp là TIP3P (môi trường nước tường minh) với khoảng cách từ phức hợp tới cạnh hộp là 1 nm, thêm ion và trung hoà điện tích bằng dung dịch NaCl 0,15 M. Quá trình cân bằng trước mô phỏng gồm tối thiểu hóa năng lượng và ổn định nhiệt độ hệ về 300 K, áp suất 0,987 atm (1 bar) với thời gian thiết lập 100 ps. Mô phỏng động lực học sau đó được thực hiện trong 20 ns, với 2000 khung hình (frame). Giá trị RMSD trong quá trình mô phỏng để đánh giá mức độ ổn định của các nguyên tử có công thức tính (1). Cấu trúc được xem là ổn định và có ý nghĩa khi $RMSD < 3,0 \text{ \AA}$ [3].

$$RMSD(t_1, t_2) = \sqrt{\frac{1}{M} \sum_{i=1}^N m_i \|r_i(t_1) - r_i(t_2)\|^2} \quad (1)$$

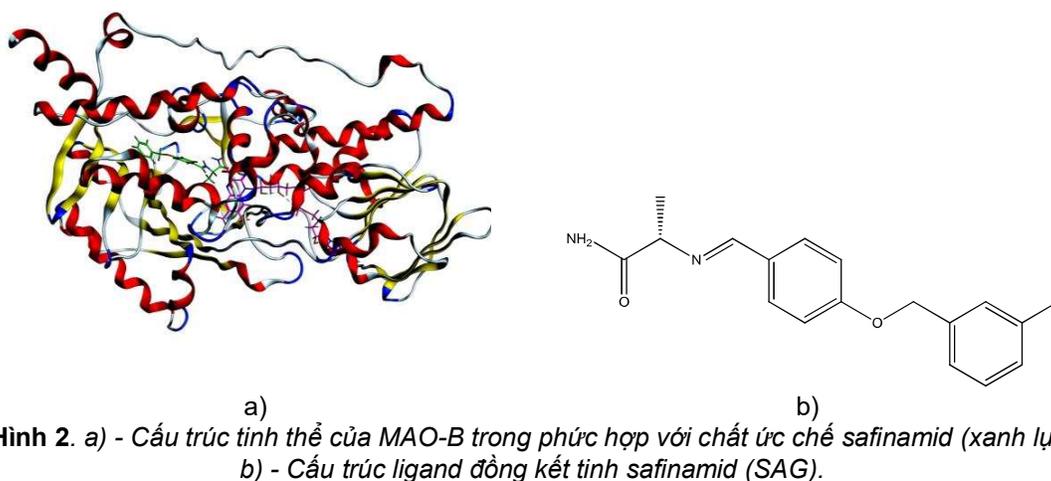
Bên cạnh đó, giá trị RMSF giúp khảo sát sự linh động của các acid amin trong protein hoặc các nguyên tử nặng của ligand trong hệ và được tính toán theo công thức (2). Acid amin (hoặc phối tử) được xem là linh động khi $RMSF > 0,2$ [4].

$$RMSF_i = \sqrt{\frac{1}{T} \sum_{t_j=1}^T |r_i(t_j) - r_i^{ref}|^2} \quad (2)$$

Kết quả

Kết quả redocking

Nghiên cứu này sử dụng cấu trúc MAO-B trong phức hợp với safinamid (pdb id: 2V5Z). Đây được coi là chất ức chế thuận nghịch và chọn lọc trên MAO-B đã được FDA công nhận trong việc điều trị bệnh parkinson (2017). Hình 2 là cấu trúc tinh thể của MAO-B bằng phương pháp nhiễu xạ tia X với độ phân giải 1,6 Å [5].

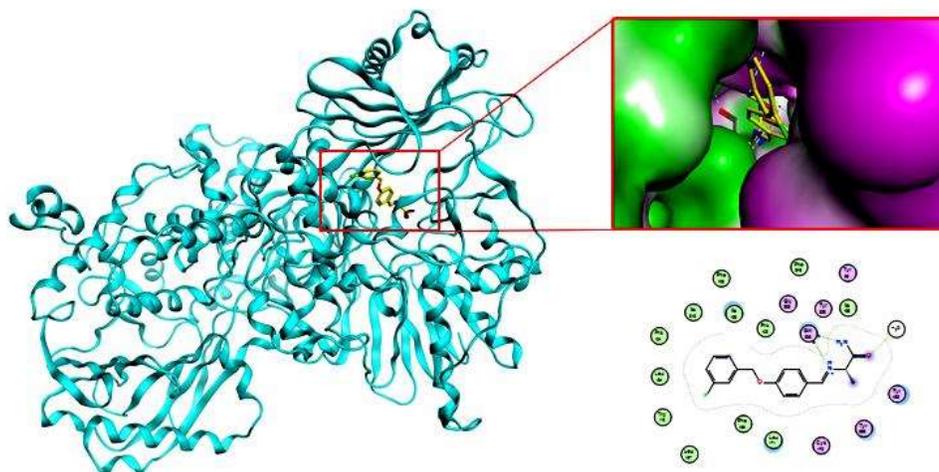


Bảng 1. Kết quả phân tích mô hình redocking của 2v5z

Phối tử	Điểm số redocking (kJ/mol)	RMSD
Phối tử 1	-28,84	0,6349
Phối tử 2	-32,50	0,6289
Phối tử 3	-32,18	0,7458

Kết quả redocking ligand đồng kết tinh SAG vào cấu trúc MAO-B được trình bày trong bảng 1. Giá trị RMSD của các phối tử đều nhỏ hơn 2 Å chứng tỏ mô hình docking có thể sàng lọc và cho kết quả đáng tin cậy. Điểm số docking của các phối tử thấp cho thấy tiềm năng gắn kết tại khoang rất tốt.

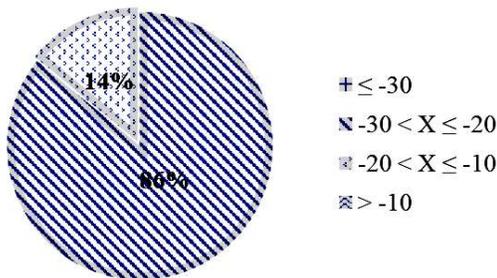
Hình 3 thể hiện sự tương tác giữa SAG với khoang gắn kết. Nhóm amid của SAG tạo 2 liên kết hydro với Gln206 và một phân tử nước. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Claudia Binda và CS. [5]. Vị trí hoạt động của MAO-B gồm 2 khoang là khoang chất nền phía trước FAD và khoang lối vào nằm dưới bề mặt của protein. Nhận thấy rằng chiều dài của SAG góp phần quan trọng vào khả năng ức chế chọn lọc MAO-B nhờ vào việc định hướng cụ thể vào hai khoang của MAO-B bằng cách thiết lập các liên kết hydro.



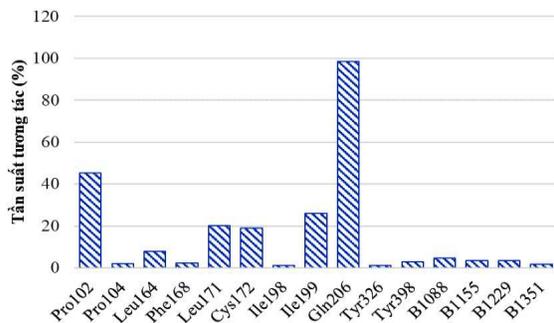
Hình 3. Khoang gắn kết của MAO-B (PDB: 2V5Z), màu vàng là ligand đồng kết tinh, các tương tác giữa các acid amin quan trọng và ligand đồng kết tinh SAG.

Kết quả xây dựng mô hình docking

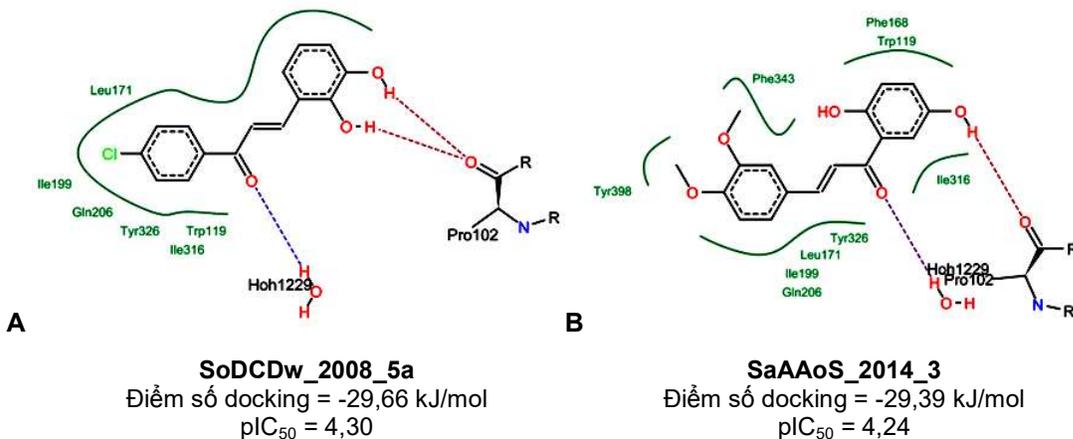
Trong số 80 chất khảo sát, có 64 chất được docking thành công vào khoang gắn kết, tạo thành 584 cấu dạng docking với điểm số docking dao động từ -29,66 kJ/mol đến -16,57 kJ/mol. Hình 4 cho thấy 86 % điểm số docking từ -30,00 kJ/mol đến -20,00 kJ/mol thể hiện khả năng gắn kết khá tốt. Tuy nhiên, lại không có chất nào có điểm số docking thấp hơn -30,00 kJ/mol.



Hình 4. Biểu đồ phân bố điểm số docking của MAO-B.



Hình 5. Tần suất tương tác với các acid amin tại khoang gắn kết MAO-B.



Hình 6. Các phối tử tiềm năng liên kết với các acid amin tại khoang MAO-B.

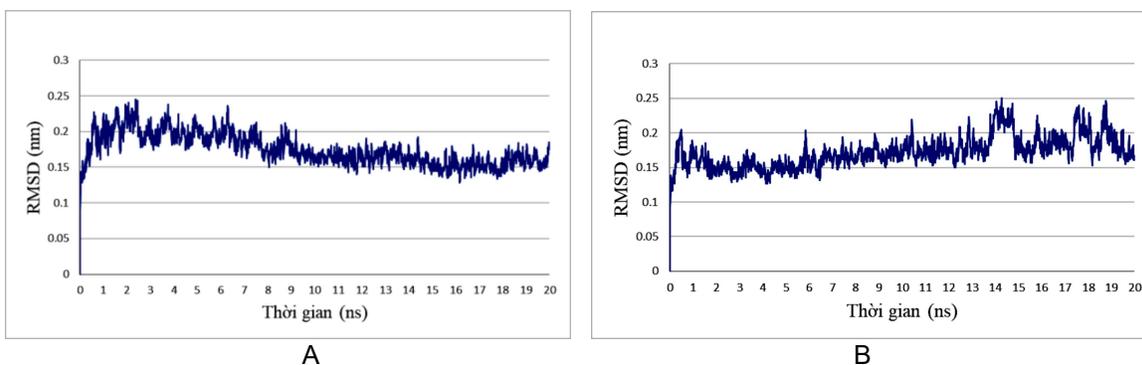
Trong khoang gắn kết các chalcon hình thành tương tác hầu hết các acid amin quan trọng. Trong đó, acid amin Gln206 có tần suất tương tác vượt trội hơn tất cả các acid amin khác với tỷ lệ 98,459 %. Gln206 tạo liên kết hydro giữa phối tử và MAO-B giúp định hướng vị trí các phối tử trong khoang gắn kết. Acid amin Pro102 cũng có tần suất tương tác khá tốt tại khoang. Bên cạnh các acid amin, phối tử còn liên kết với một số phân tử nước B1088, B1155, B1229, B1351 tại vị trí hoạt động của MAO-B.

SoDCDw_2008_5a ở hình 6A là chất có điểm số docking thấp nhất là -29,66 kJ/mol với hai nhóm -OH ở vòng B tạo liên kết hydro với Pro102 và phân tử nước B1229. Các chất có cấu trúc tương tự như SoDCDw_2008_5a chỉ thay đổi nhóm thế ở vòng A và giữ nguyên hai nhóm -OH ở vòng B, có điểm số docking đều nhỏ hơn -25,00 kJ/mol. Cấu trúc của SaAAoS_2014_3 ở hình 6B với hai nhóm -OH ở vòng A tạo 2 liên kết hydro vững chắc với Pro102. Tuy nhiên, nếu cấu trúc còn lại một nhóm -OH thì ngoài liên kết hydro với Pro102, gốc -C=O còn tạo liên kết với Tyr326 nhưng điểm số docking lại giảm còn -29,39 kJ/mol. Tương tự hai chất trên, những chất có hai nhóm -OH ở vòng A, đặc biệt là vị trí liền kề nhau có điểm số docking khá tốt. Như vậy, nhóm -OH ở vòng A là quan trọng để chất có tiềm năng gắn kết với khoang MAO-B tốt hơn.

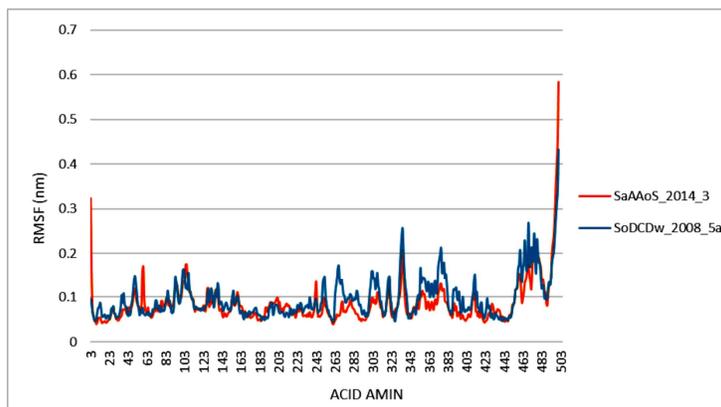
Kết quả mô phỏng động lực học phân tử

Hai chất có tiềm năng với điểm số docking tốt được nêu ở trên được tiến hành động lực học phân tử trong thời gian 20 ns và đánh giá các giá trị RMSD và RMSF. Hình 7A thể hiện giá trị RMSD của phức hợp SoDCDw_2008_5a, cấu trúc tương đối bất ổn ở 2,5 ns đầu với giá trị RMSD dao động liên tục khoảng 1,5 – 2,5 Å. Từ sau 2,5 ns đến 9 ns, giá trị RMSD bắt đầu ổn định và có xu hướng giảm dần, dao động ở mức giá trị khoảng 1,5 – 2 Å. Từ 9 ns đến cuối quá trình, phức hợp dao động ổn định với RMSD ở mức 1,5 Å. Ngược lại, phức hợp SaAAoS_2014_3 dao động bất ổn trong 1,5 ns

đầu và bắt đầu có xu hướng ổn định từ 1,5 ns đến 14 ns với giá trị RMSD nằm trong khoảng giá trị từ 1,5 đến 2 Å. Tuy nhiên, từ sau 14 ns giá trị RMSD của phức hợp biến động tăng giảm liên tục ở khoảng 1,5 đến 2,5 Å (hình 7B). Kết quả này cho thấy các giá trị RMSD của từng chất SoDCDw_2008_5a và SaAAoS_2014_3 gắn kết với protein đều nhỏ hơn 2,5 Å, điều này có nghĩa là protein trong phức hợp protein-phối tử ổn định và kết quả động lực học có ý nghĩa. Trong đó, phức hợp SoDCDw_2008_5a có giá trị RMSD nhỏ hơn, ổn định hơn trong thời gian 20 ns so với phức hợp SaAAoS_2014_3.



Hình 7. Giá trị RMSD của phức hợp SoDCDw_2008_5a (A) và phức hợp SaAAoS_2014_3(B)



Hình 8. RMSF của 2 phức hợp SoDCDw_2008_5a và phức hợp SaAAoS_2014_3

Hình 8 cho thấy các acid amin của phức hợp SoDCDw_2008_5a tương đối ổn định trong quá trình mô phỏng với các giá trị RMSF hầu hết giá trị đều nhỏ hơn 2 Å. Tuy nhiên, phức hợp cũng có các vùng acid amin linh động hơn khi giá trị RMSF > 2 Å như vùng acid amin thứ 323 – 383,

đỉnh là acid amin thứ 335 và vùng acid amin thứ 463 – 483 với đỉnh giá trị RMSF = 2,681 Å của acid amin thứ 469. Ở khoảng hoạt động của enzym, SoDCDw_2008_5a tương tác với hai acid amin quan trọng Gln206, Pro102 tương đối ổn định, cho giá trị RMSF lần lượt là 0,669 Å

và 1,636 Å. Đối với phức SaAAoS_2014_3, kết quả RMSF trong hình 8 khá ổn định, hầu hết các giá trị đều nhỏ hơn 2 Å. Các tương tác ở hai acid amin quan trọng Gln206 và Pro102 khá ổn định và giá trị RMSF lần lượt là 0,709 và 1,232 Å. Nhìn chung, cả hai phức hợp đều có giá trị RMSF nằm trong khoảng chấp nhận, tuy vậy giá trị RMSF của phức hợp SaAAoS_2014_3 nhỏ hơn hẳn.

Bàn luận

Mô hình docking MAO-B không có chất nào có điểm số docking thấp hơn -30,00 kJ/mol với 86 % các chất đều có điểm số thấp hơn -20,00 kJ/mol. Hai chất có kết quả docking tốt nhất là SoDCDw_2008_5a và SaAAoS_2014_3 với điểm số docking lần lượt -29.66 kJ/mol và -29.39 kJ/mol. Khả năng gắn kết thay đổi phụ thuộc vào cấu trúc chalcon như sau: Thêm nhóm -OH làm tăng khả năng gắn kết tại khoang, nếu có 2 nhóm -OH liền kề hoặc nhóm -OH ở vị trí *para* trên vòng B sẽ tăng tương tác (1); Nhóm thế rất quan trọng trong việc tăng khả năng gắn kết, đặc biệt là hai nhóm -NO₂ và -OH (2); Vị trí nhóm thế cũng rất quan trọng: *para* > *meta* > *ortho* (3) và vòng A càng rộng càng giảm (4). Kết quả MD của phức hợp SoDCDw_2008_5a cho thấy protein trong quá trình mô phỏng tương đối ổn định với giá trị RMSD dao động trong khoảng 1,5 – 2 Å. Các acid amin quan trọng trong khoang gắn kết của phức hợp cho kết quả RMSF đều < 2 Å nhưng phức hợp lại có các vùng acid amin khá linh động với các giá trị RMSF xấp xỉ 2,5 Å. Còn ở phức hợp SaAAoS_2014_3 lại cho kết quả khả quan hơn khi hầu như toàn bộ các acid amin đều có giá trị RMSF < 2 Å, chứng tỏ các acid amin trong phức hợp này ổn định hơn. Tuy vậy phức hợp lại có giá trị RMSD dao động bất ổn ở giai đoạn cuối của quá trình mô phỏng nhưng giá trị RMSD vẫn nằm trong ngưỡng chấp nhận.

Kết luận

Mô hình docking phân tử được xây dựng để đánh giá khả năng gắn kết với các hợp chất chalcon với enzym monoamin oxidase B (MAO-B). Hầu hết các chất nghiên cứu đều có khả năng gắn kết tốt tại khoang gắn kết của các

enzym MAO-B. Nhìn chung, chalcon và dẫn xuất vẫn có tiềm năng ức chế các enzym monoamin oxidase B. Khả năng gắn kết mạnh hay yếu còn tùy thuộc vào cấu trúc của các chất và khả năng gắn kết của chất này với những acid amin quan trọng tại vị trí hoạt động của enzym. Từ kết quả MD, nghiên cứu nhận thấy hai chất SoDCDw_2008_5a và SaAAoS_2014_3 là hai chất ức chế tiềm năng nhất, có thể được thực hiện mô phỏng và phân tích trong thời gian dài hơn, đồng thời tính toán năng lượng liên kết trước khi lựa chọn thử nghiệm *in vitro* nhằm khẳng định tiềm năng gắn kết và ức chế enzyme MAO-B.

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.05-2018.15.

Tài liệu tham khảo

1. Yeung A. W. K., Georgieva M. G., Atanasov A. G. et al. (2019), "Monoamine oxidases (MAOs) as privileged molecular targets in neuroscience: Research literature analysis", *Front. Mol. Neurosci.*, 12, pp. 143.
2. Gohlke H., Hendlich M., Klebe G. J. (2000), "Knowledge - based scoring function to predict protein - ligand interactions", *J. Mol. Biol.*, 295 (2), pp. 337-356.
3. Reva B. A., Finkelstein A. V., Skolnick J. (1998), "What is the probability of a chance prediction of a protein structure with an rmsd of 6 Å?", *Fold Des.*, 3 (2), pp. 141-147.
4. Sundar S., Thangamani L., Manivel G. et al. (2019), "Molecular docking, molecular dynamics and MM/PBSA studies of FDA approved drugs for protein kinase a of *Mycobacterium tuberculosis*; application insights of drug repurposing", *Informatics in Medicine Unlocked*, 16, pp. 100210.
5. Binda C., Wang J., Pisani L. et al. (2007), "Structures of human monoamine oxidase B complexes with selective noncovalent inhibitors: Sildenafil and coumarin analogs", *J. Med. Chem.*, 50 (23), pp. 5848-5852.